

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-171294

(43)Date of publication of application : 17.06.2003

(51)Int.Cl. A61K 35/78
A61K 9/19
A61P 7/02
// A23L 1/30
A23L 2/38
A23L 2/52

(21)Application number : 2001-370038 (71)Applicant : NOF CORP

(22)Date of filing : 04.12.2001 (72)Inventor : KAJIMA MINORU
ABE TAKAMIKI

(54) THROMBOGENESIS SUPPRESSING AGENT AND COMPOSITION CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a thrombogenesis suppressing agent suppressing thrombogenesis by improving thrombolysis activity in acidic region.

SOLUTION: The thrombogenesis suppressing agent comprises an extract of kiwi fruit obtained by extracting flesh of the kiwi fruit with a water-based solvent. The water based solvent is a 1-20 mM aqueous solution of a hydrochloric acid salt of cysteine, and comprises a high polymer fraction obtained by removing low polymer fraction by using a ultrafiltration membrane having molecular weight cut off ?3,000 or a reverse osmosis membrane having ?10% of desalting rejection.

LEGAL STATUS [Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-171294
(P2003-171294A)

(43) 公開日 平成15年6月17日 (2003.6.17)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	C 4 B 0 1 7
	9/19		4 B 0 1 8
A 6 1 P 7/02		A 6 1 P 7/02	4 C 0 7 6
// A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 8
	2/38	2/38	C
審査請求 未請求 請求項の数4 O L (全 5 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-370038 (P2001-370038)

(22) 出願日 平成13年12月4日 (2001.12.4)

(71) 出願人 000004341

日本油脂株式会社

東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号

(72) 発明者 鹿島 稔

東京都足立区江北2-2-8

(72) 発明者 阿部 高樹

埼玉県さいたま市針ヶ谷3-13-9

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血栓抑制剤および組成物

(57) 【要約】

【課題】 酸性領域において、血栓溶解活性を上げて血栓形成を抑えることができる血栓抑制剤を提供する。

【解決方法】 キウイフルーツの果肉を水系溶媒で抽出してなるキウイ抽出物からなることを特徴とする血栓抑制剤。さらに、水系溶媒が1~20mMシステイン塩酸塩水溶液であり、さらに分画分子量3000以上の限外濾過膜あるいは脱塩阻止率10%以上の逆浸透膜を用いて低分子量画分を除いた高分子量画分からなる前記の血栓抑制剤。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】キウイフルーツの果肉を水系溶媒で抽出してなるキウイ抽出物からなることを特徴とする血栓抑制剤。

【請求項 2】水系溶媒が 1～20mM シス테인塩酸塩水溶液であり、さらに分画分子量 3000 以上の限外濾過膜あるいは脱塩阻止率 10% 以上の逆浸透膜を用いて低分子量画分を除いた高分子量画分からなる請求項 1 記載の血栓抑制剤。

【請求項 3】請求項 2 記載の高分子量画分の水溶液を凍結乾燥してなる血栓抑制剤。

【請求項 4】請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載のキウイ抽出物と、さらに賦形剤とからなることを特徴とするキウイ抽出物を含有する組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キウイフルーツから抽出してなる血栓抑制剤に関する。さらに詳しくは、キウイ果肉から水系溶媒で抽出してなるキウイ抽出物からなることを特徴とする血栓抑制剤に関する。さらに前記抽出物と賦形剤とからなる血栓抑制剤組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、急速な高齢化および食生活の欧米化などにより、脳血栓、心筋梗塞などの血栓症の疾患が多くなり、死因の上位を占める勢いである。血栓症とは、血管内の血液が凝固してできる血栓のために起こる病気であり、血栓の主成分はフィブリン（線維素）である。すなわち、フィブリンを主成分とする血栓の形成が、フィブリン除去に働く線溶系の活性を凌ぐことで血栓症が起こる。したがって、血栓溶解活性を上げることにより血栓形成を抑え、ひいては、血栓症を予防するが可能となる。このような血栓症予防の観点から、須見により、納豆中の血栓溶解酵素が見出され、ナットウキナーゼと命名された。その後、ナットウキナーゼの血栓溶解作用に関する知見に基づき、ナットウキナーゼ含有食品が市場に展開されている。しかし、ナットウキナーゼは酸性領域で失活する問題があり、そのまま服用した場合、胃内で酸性条件下にさらされて失活すると考えられる。さらに、酸性条件下での加工を必要とする飲料などの加工食品へナットウキナーゼを利用することは困難である。また、ナットウキナーゼは、納豆由来の独特な臭いを有していて、食べにくい等の問題がある。一方、キウイフルーツに関しては、これまでに、キウイの果肉の水溶性成分から得られる高分子量画分であるキウイ抽出物には食肉を軟化する効果を有することが知られている（特開平 4-278063 号公報）。しかし、キウイ抽出物の血栓抑制効果についてはこれまでに全く知られていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の第 1 の目的は、キウイ抽出物からなる血栓抑制剤を提供することにある。さらに、本発明の第 2 の目的は、キウイ抽出物と賦形剤とからなる血栓抑制剤組成物を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記問題を解決するため鋭意検討した結果、キウイの果肉を原料として水系溶媒で抽出した成分に血栓抑制効果があることの知見を得て、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は次に示す〔1〕～〔4〕である。

〔1〕キウイフルーツの果肉を水系溶媒で抽出してなるキウイ抽出物からなることを特徴とする血栓抑制剤。

〔2〕水系溶媒が 1～20mM シス테인塩酸塩水溶液であり、さらに分画分子量 3000 以上の限外濾過膜あるいは脱塩阻止率 10% 以上の逆浸透膜を用いて低分子量画分を除いた高分子量画分からなる前記〔1〕記載の血栓抑制剤。

〔3〕前記〔2〕記載の高分子量画分の水溶液を凍結乾燥してなる血栓抑制剤。

〔4〕前記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載のキウイ抽出物と、さらに賦形剤とからなることを特徴とするキウイ抽出物を含有する組成物。

【0005】

【発明の実施の形態】本発明の血栓抑制剤は、キウイフルーツの果肉を原料として、水系溶媒で抽出した成分を含有することを特徴とする。本発明に使用するキウイフルーツとしての原料は、種類や原産国、成熟度等は特に限定されず、その果肉をそのまま用いてもよく、またピューレあるいはジュースなどの加工物を用いてもよい。本発明で抽出に用いる水系溶媒としては、例えば水、pH 緩衝液、シス테인塩酸塩水溶液が挙げられる。この中でも、1～200mM のシス테인塩酸塩水溶液が好ましい。本発明のキウイフルーツから水系溶媒による抽出物はキウイ果肉に含まれる水溶性成分であって、キウイフルーツの果肉の水溶性成分による抽出物、または果肉をホモジナイズしたキウイフルーツピューレから固形物を分離して得られる成分である。次に具体的な抽出方法の 1 例について説明する。上記の水溶性成分としては、キウイフルーツ果汁そのものを使用することもできるが、例えばキウイフルーツの果肉に、果肉の 0.1～3 重量倍の水、pH 緩衝液、その他の水系溶媒を加え、均質化して抽出した後、遠心分離を行い、上清画分を濾過して得ることができる。前記のキウイフルーツと水との均質化には、ミキサーの種類、均質化の強度、時間等には特に限定されない。均質化の時間は、例えば、家庭用のミキサーを用いれば、5℃以下に保持しつつ 1～120 分間程度である。この際の水系溶媒として 1～200mM シス테인塩酸塩水溶液を用いると、酵素活性の高い水溶性成分が得られる。シス테인水溶液としては、

システイン塩酸塩溶液が好ましい。また、システイン水溶液に0.1~1Mになるように塩化ナトリウム(NaCl)等の中性塩を添加することにより、さらに高い酵素活性を得ることができる。均質化終了後に固液を分離するには、遠心分離、濾過等公知の手段を採用することができる。遠心分離する場合の条件は、2000~10000rpmで3~30分間が適当である。また、遠心分離には、冷却高速遠心分離機等を使用することができる。冷却高速遠心分離機を用いる場合は、4000~6000rpmで5~20分間遠心分離を行うのが好ましい。また、遠心分離操作を行うことなく、均質化した後そのまま濾過機を用いて濾過して水溶性成分を得ることもできる。

【0006】こうして得られたキウイ抽出物の画分には、タンパク分解酵素であるアクチニジンを含むが、それ以外に、酸類、糖類等の不純物を多量に含んでいる。本発明の目的とする水性画分を高濃度で得るためには、限外濾過膜または逆浸透膜を用いて膜分離を行い、限外濾過膜または逆浸透膜透過成分の低分子量成分を除去することが好ましい。限外濾過膜としては、分画分子量3000~20000のものが挙げられる。分画分子量3000、好ましくは10000、さらに好ましくは20000の膜を用いることにより、それ以下の低分子物質は透過して除去し、目的の画分を高濃度にすることが望ましい。逆浸透膜としては、脱塩阻止率10~40%のものが挙げられる。例えば、脱塩阻止率10%、より好ましくは40%のものを使用することによって、不純物を分離することによって目的物の画分を高濃度にすることができる。限外濾過膜、逆浸透膜の材質としては、特に限定されないが、ポリアミド膜、酢酸セルロース膜などが使用できる。また、モジュールの形式も限定されず、平膜型、スパイラル型、ホローファイバー型などが使用できる。これらの膜を用いた膜分離では、前記キウイ抽出物を加圧して膜モジュールに送り込み、低分子物質を水とともに透過させる。これにより低分子物質が除去されるとともに、高分子物質を含む水溶液は濃縮される。キウイ中のタンパク分解酵素であるアクチニジン(分子量約26000)は膜を透過しないので、濃縮液側に残るこの酵素の活性を目安として抽出すればよい。濃縮液は循環して膜分離を行い、2~6倍に濃縮した段階で、膜分離を終わり、高分子量画分を得る。処理温度としては、10℃以下が好ましい。前記のように抽出物は目安としてキウイ中のタンパク分解酵素アクチニジンが含まれているので、食品衛生学会誌(Vol. 35, No. 4, 380~384ページ, 1994年)に記載の方法により、アクチニジン酵素活性を指標に高分子量画分を得ることができる。なお、必要に応じて、さらに目的の画分を高濃度にするためには、さらに50000以上の高分子量画分を除去してもよい。前記の水系溶媒による抽出物は、その後凍結乾燥することにより

固形化、粉末化することが好ましい。特に、水溶液より固形化、粉末化することにより経時的な安定性が得られる。

【0007】こうして得られた高分子量画分は、さらに賦形剤を添加して粉末化することが望ましい。これらの賦形剤としては、乳糖、マルトオリゴ糖、デキストリン等が挙げられる。これらの賦形剤は、凍結乾燥した固形化物、粉末化物と配合してもよいし、前記のようにして得た濃縮液の画分に配合して粉末化してもよい。前記賦形剤の配合量は、例えば、前記濃縮液として得られる高分子量画分に対して、3~40重量%添加するのが好ましい。粉末化は、凍結乾燥、噴霧乾燥など、任意の方法を採用することができる。このうち、凍結乾燥が好ましく、この場合、前記濃縮液あるいは賦形剤を添加した濃縮液を凍結乾燥した後、粉碎用ブレンダーを使用して粉末化するのが好ましい。凍結乾燥の温度は、-3~-40℃、特に-10~-30℃前後が好ましい。こうして得られる粉末組成物は、タンパク分解酵素を含む高分子画分の水溶性成分が、10~50重量%、好ましくは20~40重量%、賦形剤が50~90重量%、好ましくは60~80重量%からなる粉体である。なお、キウイ抽出物の組成物としては、前記のような抽出方法によって得ることもできるし、市販品を用いることもできる。キウイ抽出物の組成物の市販品としては、キウイフルーツエース[日本油脂(株)製;製品名:キウイフルーツ抽出酵素2.3%、デキストリン等97.7%]を挙げることができる。

【0008】本発明のキウイ抽出物を含有する組成物は、本発明の効果を損なわない範囲において、必要により前記賦形剤以外の他の成分を含んでもよい。前記の他の成分としては、ビタミンミックス、ミネラルミックス、調味料、着色料、香料等の食品成分が挙げられる。これらの他の成分の含有量は、1~20重量%である。前記の粉末状のキウイ抽出物を含有する組成物は、そのまま、または水等の水性媒体に溶解した状態で血栓抑制剤として使用される。水に溶解する場合は0.05~50重量%、好ましくは0.1~5重量%の濃度として使用する。本発明のキウイ抽出物を血栓抑制剤として使用する形態は、特に制限がなく、例えば、錠剤品、ソフトカプセル、飲料などとするすることができる。錠剤品としては、例えば、健康食品、錠剤菓子などを挙げることができる。ソフトカプセルとしては、例えば、健康食品などを挙げることができる。飲料としては、例えば、スポーツ飲料、果汁飲料、乳酸飲料、アルコール飲料、豆乳などを挙げることができる。また、パン、ビスケット、キャンディー、ゼリーなどのパン、菓子類;ヨーグルト、ハムなどの乳肉加工食品;マーガリン、ショートニングなどの油脂加工食品などの食品の形態とすることもできる。本発明のキウイの果肉からの水系溶媒による抽出物からなる血栓抑制剤は、血栓溶解活性を上げて血

栓形成を抑えることができ、前記キウイ抽出物は、酸性領域での血栓溶解活性が維持されるので広く用途に展開できる。さらに、酸性条件下での加工を必要とする飲料などの加工食品に応用できる。

【0009】

【発明の効果】本発明の血栓抑制剤は、キウイの果肉からの水系溶媒による抽出物であって、血栓溶解活性を上げて血栓形成を抑えることができる。前記キウイ抽出物は、酸性領域での血栓溶解活性が維持されるので広く用途に展開できる。

【0010】

【実施例】以下に、具体例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。

実施例 1

アクチニジンを含むキウイの果肉の高分子量画分を含むキウイ抽出物の組成物[製品名キウイフルーツエース；日本油脂（株）製]を被検試料として用い、酸性条件に晒した後での血栓溶解活性をフィブリン平板法（須見洋行、食品加工技術、Vol. 20, No. 2, p. 64~70）に準拠して下記の通りに実施した。原理はシャーレ内でフィブリノーゲン溶液にトロンビン溶液を加え、人工血栓（フィブリン）を作らせ、その上に試料をのせてインキュベーションした後に生じる溶解孔の面積を測定するものである。まず、0.2%フィブリノーゲン溶液を滅菌プラスチックシャーレに9mL注ぎ、牛トロンビン溶液0.2mLを加えて、手早く混和し、水平に静置する。フィブリンが生成・凝固し、白色半透明の寒天状平板となる。これを標準フィブリン平板と呼ぶ。被検試料は、pH2、3、4、5のホウ酸緩衝液に溶解し、各々20重量%溶液となるように調製し、常温で1時間放置した後、pHを4に調製してから、上記の標準フィブリン平板に20μL滴下した。その後、37℃で2時間保温して反応させた。反応終了後、白色半透明のフィブリン平板に透明な溶解孔の面積を算出し、血栓溶解活性とした。結果を表1に、また、結果の写真を図1に示す。表1より、酸性領域のpH2、3、4、5において溶解孔面積が60mm²以上であり、血栓抑制効果があることがわかる。また、酸性の度合いが強いほど溶解孔面積が大きく、効果が大きいこともわかる。図1の写真より、血栓がpH2、3、4、5でいずれも溶解されており、血栓抑制効果があることが視覚的にもわかる。

【0011】比較例 1

実施例1と同様に、市販のナットウキナーゼ製剤[NSK-FD粉末；（株）日本生物・科学研究所製]の血栓溶解活性を評価した。ただし、ナットウキナーゼ製剤の酵素精製度は、キウイ抽出物のそれに比べて高く、試験溶液の濃度は、上記キウイ抽出物濃度の溶解活性と同一の活性を示す濃度である0.05%とした。結果を表1に、また、結果の写真を図2に示す。表1より、pH

2、3において溶解孔面積が0mm²であり、血栓抑制効果が認められなかった。また、pH4、5においては溶解孔面積がそれぞれ23.8mm²、51.5mm²であり多少の血栓抑制効果は認められたものの、実施例1に比較すると劣るものであった。図2の写真より、これらのことが視覚的にもわかる。

【0012】

【表1】

表1

		実施例1	比較例1
1時間放置 pH		溶解孔面積 (mm ²)	
溶解液 pH	2	93.3	0
	3	91.6	0
	4	56.7	23.8
	5	62.2	51.5

【0013】以上、表1および図1、2より、溶解液pHが2および3の時、比較例1では、溶解孔面積が0mm²（図2中波線丸印で囲んだ部分）であり、全く血栓溶解活性がなかったのに対して、実施例1（図1）のキウイ抽出物の組成物を用いた試験では血栓抑制効果が認められた（なお、図1、2はフィブリン平板法での溶解孔の状態であり、孔の面積が大きいほど活性が高いことを示す）。このようにキウイ抽出物は酸性領域下で血栓抑制効果があることがわかる。

【0014】実施例2（錠剤の作製）

キウイ抽出物の組成物[製品名キウイフルーツエース；日本油脂（株）製]2g（2重量%）、乾燥コーンスターチ[日本食品化工（株）]96g（96重量%）、タルク[和光純薬（株）]1.8g（1.8重量%）およびステアリン酸カルシウム[日本油脂（株）]2g（0.2重量%）を混合し、ロッキングミキサーで10分間混和したのち、打錠機を用いて、1錠0.52gの錠剤を作製した。

【0015】実施例3（カプセル剤の作製）

キウイ抽出物の組成物[製品名キウイフルーツエース；日本油脂（株）製]5g（3.7重量%）、結晶セルロース[旭化成工業（株）]35g（26.2重量%）、乾燥コーンスターチ[日本食品化工（株）]67g（50重量%）、乳糖[和光純薬工業（株）]22g（16.4重量%）、ステアリン酸カルシウム[日本油脂（株）]2g（1.5重量%）および結合剤としてのポリビニルピロリドン3g（2.2重量%）を混合して粉末化したのち、ゼラチン硬カプセルに充填し、1錠300mgのカプセル剤を作製した。

【0016】実施例4（飲料の作製）

キウイ抽出物の組成物[製品名キウイフルーツエース；

日本油脂(株)製]0.1重量%、アスコルビン酸ナトリウム5.5重量部、ビタミンC0.9重量%、レモン果汁0.5重量%、果糖ブドウ糖液糖7.9重量%、グラニュー糖4.5重量%、レモンフレーバー0.1重量%および水84.45重量%を混合し、飲料を作製した。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は実施例1で得られた血栓抑制効果を調べた写真である。

【図2】図2は比較例1で得られた血栓抑制効果を調べた写真である。

【図1】



図1 実施例1の結果

【図2】

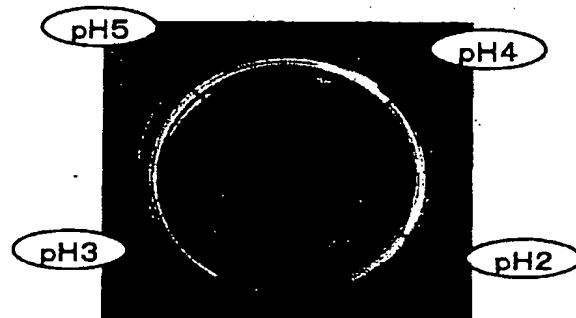


図2 比較例1の結果

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

ターマート(参考)

A 2 3 L 2/52

A 2 3 L 2/00

F

Fターム(参考) 4B017 LC03 LG01 LP01
4B018 LB08 LE05 MD52 ME14 MF01
MF06
4C076 AA29 AA36 CC14 DD28 DD41
DD64 EE38
4C088 AB12 AC04 BA08 CA04 CA17
MA44 NA14 ZA54